

河川漁場における微細付着藻類の走査電子顕微鏡観察と増殖に関する一考察

誌名	広島県水産試験場研究報告
ISSN	03876039
著者名	高山,晴義
発行元	広島県水産試験場
巻/号	19号
掲載ページ	p. 35-40
発行年月	1996年5月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



河川漁場における微細付着藻類の走査電子顕微鏡観察 と増殖に関する一考察

高山 晴 義

Observations on the Benthic Micro-algae in River
and One Thought on Growth of the Algae

Haruyoshi TAKAYAMA

河川に遡上したアユは成長すると縄張りを形成するようになるが、その餌料が石や岩に付着した藻類（いわゆるコケ）であることはよく知られている。従来、アユの生息基準密度は、京都方式と呼ばれる縄張りの広さから算定する方法によって求められてきた¹⁾が、最近では河川の生産力（付着藻類の現存量および増殖量）についても考慮すべきであるとの考えが広がっている²⁻⁵⁾。

付着藻類の観察には、ピンセットなどを使用して物理的に石から剥し取ってスライドグラス上に載せ、光学顕微鏡を使って透過光で観察する方法があり、構成種の比率を算定などに多用されている。この方法では、剥離する段階で藻類の細胞を損傷したり、生物群落の配列を乱すので、石面に付着したそのままの状態を観察することはできない。落射照明下で実体顕微鏡を用いると、石の状態を直接観察することができるが、一般に実体顕微鏡は倍率が低いので詳細な観察には適さない。また、スライドグラスを河川に浸漬し、それに付着した藻類を観察する方法も考えられるが、基質の違いによる付着状況の差が生じ得る可能性がある。

著者は、走査電子顕微鏡（SEM）を使用して、種々の海洋プランクトンを観察してきた⁶⁻⁹⁾。SEMは分解能が高い、焦点深度が深いなどの特徴を持ち、試料表面の詳細な立体構造を観察することができる。これを河川付着藻類の観察に使用すれば付着藻類の状態を損傷することなく、しかも詳細に観察できると考えたので、その観察方法について検討を行なった。また、観察の結果、付着藻類の増殖方法に関する新たな知見が得られたので、考察を加えた。

材料及び方法

観察材料の藻類が付着した石は、1990年6～9月に広

島県水産試験場淡水魚支場地先の西城川で適宜採取した。結果および考察の項で述べるように、SEM観察が可能な石の大きさには制限があるので、アユの喰み跡があり、表面の状態が周囲の岩石に近い小石を選んで観察に供した。

また、図版IDに示したような、裏面に1～1.3cmの格子状の刻み目を入れた厚さ約0.5cm、長さ15～20cm、幅5～6cmの素焼き粘土板（付着板）を作成し、それに付着した藻類についても調査を行った。1990年8月にこの付着板をコンクリートブロックに固定して、西城川の適当な速さの流れがある場所に沈設し、1～2日ごと付着板の端から順に、刻み目に沿ってその一部（サンプルピース）を折り取り、SEM試料を作成した。

試料の付着藻類は石やサンプルピースに付着させたまま、固定→水洗→脱水→酢酸イソアミル置換→臨界点乾燥→金属被覆の処理を行なって作製した。固定は2%グルタルアルデヒドで行い、その後の操作は高山⁹⁾が赤潮生物の試料作製に用いている方法を準用した。観察には日立製作所製のS-430型SEMを使用した。

付着板では、藻類の形態学的な観察とともに、その表面に付着した珪藻の数についても調査を実施した。その方法は、SEMの試料移動装置の移動距離をマイクロメーターを読みながら一定面積を観察し、その間に検出された珪藻の細胞数を計数した。

結果および考察

赤潮生物の試料作製過程で、最も注意を要するのは固定である。オスミック酸を使用することでかなり改善されたが、常に良好な固定試料が得られるとは限らない⁹⁾。それに比べると、付着藻類は固定が簡単で、グルタルアルデヒドでも精密な観察に耐え得る良好な固定材料が

得られた。また、一般に赤潮生物は微細であり、処理の過程で試料の紛失を防ぐため、ガラス板に接着させたり遠心分離して試料を集めるなどの処置が必要である⁹⁾。これに対し、付着藻類はすでに基物に付着しており、付着表面を摩擦するなどしない限り、ほとんど逸脱することがなく、そのSEM試料作製は赤潮生物より容易である。

図版 I A に *Scenedesmus* sp. および *Anabena* sp. を示す。付着藻類としては比較的稀にしか出現しないこれらの藻類も新鮮に観察することが出来た。また、付着藻類だけでなく水生昆虫類やその巣も観察された(図版 I B, C)。ただし、水生昆虫は固定の段階で石表面から逃避・離脱する事が多いので、定量的な調査には適さない。

このようにSEMは、河川付着藻類の観察に非常に優れた方法であると思われたが、観察し得る石の大きさが臨界点乾燥装置の圧力容器やSEMの試料室の大きさによって制限される。本研究に用いたS-430型SEMで観察し得る石は、直径30mm厚さ15mm以下の小石に限られた。一般に、アユが利用する石は、直径が10cm以上のものであると考えられており、SEM観察が可能な小石には喰み跡が残っていることは少ない。このような小石は、流心から離れたところであって砂泥を被っているか、流心にあるものは容易に押し流されるため藻類量が少ない場合が多く、実際にアユが利用している石とは植物相が異なっている可能性がある。石を適当な大きさに細断して、その一部を監視観察することができればよいが、生物群集の配列を損傷することなしに紛砕することは容易でない。

そこで、図版 I D に示したような藻類付着板を考案して観察に供した。素焼板に付着する藻類は天然の石に付着するものと成分がほとんど変わらないとされており¹⁰⁾、実際に藻類を十分に付着板をアユの飼育池に投入したところ、喰み跡が形成され、アユがその表面の藻類を摂取したことが確認された。

付着板の裏面に格子状の刻みを入れたのは、付着板を折り易くするためのもので、この1区画(テストピース)を折って観察試料を作製し、観察に供えた。テストピースを端から順に採取して、付着板上の時間的な変化についても追跡調査した。

この方法は、特に藻類の付着初期の観察に有効であった。

図版 I, E-G は西城川に沈設して24時間経ったもので、すでに *Synedra* sp., *Cymbella* sp., *Gomphonema* sp. などの珪藻類が付着しているのが観察された。こ

の時観察された珪藻のほとんどは単一細胞であり(図版 I E, F), 稀に2分裂しているものも観察された(図版 I G)。図版 I H, I は沈設後3日目のもので、*Synedra* sp. の8細胞群体が観察された。図版 I J は沈設後5日目のものである。これら珪藻の群体は最初は1細胞のまま付着したものが、分裂を繰り返しながら増殖してこのような群体を形成したものであると思われる。図版 II A, B は7日目の状態で、珪藻が付着し群体を形成して付着板の沈設直後に群体のもとになった1細胞が付着したと想定すると、この群体は少なくとも1日に1回程度分裂して形成されたことになる。図版 II, C は沈設後9日後の状態、*Symbella* や *Synedra* の細胞が交錯して、もはや個々の群体が識別できなくなった。

SEMで一定面積に付着した珪藻の数を計数して、その変化を示したのが図1である。沈設1日後の付着板には約550細胞/cm²、3日後には4,600細胞/cm²、5日後には33,000細胞/cm²の珪藻が付着していた。前述したように沈設1日後の珪藻のほとんどは単独の細胞であり、群体を形成した珪藻は少なかった。このことからこの段階では、付着板上の珪藻は水中に浮遊したものが付着したものであり、付着板上では増殖はあまり起こらないと考えてよいようである。図1に示したように、沈設1日から5日後までの4日間に珪藻は60倍に増加した。これは1日に2倍強増殖したことになる。上述した *Synedra* 群体の観察でも、少なくとも一日に1回程度は分裂することが示唆されており、河川付着珪藻類の増殖速度が速いことを示している。

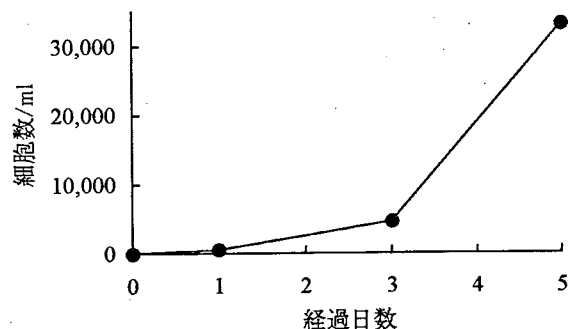


図1 付着板上の珪藻細胞数の変化

珪藻とは別に、付着板には図版 II D, E に示したような球形の粒子状の細胞(粒状細胞)が多数観察された。光学顕微鏡でもそれに相当する粒状細胞が観察された(図版 II F)。この粒状細胞は付着板の沈設直後は少ないが、やがて数を増し、場所によっては一面を被うように

増殖していた(図版ⅡE)。その頃には図版ⅡG, Hに示したような棒状の細胞が観察された。粒状細胞と防除有細胞との間には段階的な成長段階があることが観察された。

一般に、アユ漁場のコケの多くは珪藻であり、アユの主な餌料は珪藻であると考えられてきた。しかし、実際にアユ漁場の付着藻類を調査すると、*Homoeothrix* 属を中心に藍藻類はかなり多い¹¹⁻¹²⁾。付着板を使用した観察では、典型的な藍藻類の糸状細胞が光学顕微鏡で観察されるのは沈設後かなり日数が経過した後で沈設初期には認められないが、この粒状細胞や棒状細胞が糸状藍藻の現基ではないかと推定される。藍藻は基本的には単細胞性の原核生物で、二分裂によって増殖する。糸状藍藻はトリコームと呼ばれるセルロース質の鞘の中で成長する。最初分裂した細胞ははじめから長く連鎖するのではなく、個々に分散して石面の地域を占有し、藻体はある区域のものがほぼ一斉に伸長するものと考えられる。藻数量が少ない時は珪藻が比較的多いが、藻類量が多くなると *Homeothrix* を主体とする糸状藍藻が占める割合画多くなる傾向がみられる¹³⁻¹⁴⁾。糸状藍藻は、初期には目につかないものの沈設した当初から原基が付着しており、はじめに細胞数が増加し、つぎに糸状に伸長する、という増殖方法が行われていると見てよい。

アユ漁場の付着珪藻のほとんどは羽状目である。付着量が少ない時は図版Ⅱに示すように蓋殻面で石表面に接しているが、付着量が多くなると長軸面が接して垂直に付着したり、幾層にも重なるようになる。また、*Cymbella* sp. のように柄を持つものもあり、石表面を立体的に利用して付着量を増加させている。しかし、重なりが多くなると、下部の珪藻には光が当たり難くなるために枯死しやすくなると考えられる。また、細胞同士の連絡はそれほど強いとは考えられないので、強い流れの中では剥離しやすくなると考えられる。珪藻だけでは生産量には限界があるのではないかと推測される。

その点、*Homeothrix* などの糸状藍藻は、基部が付着しているだけで藻体は水中に長く伸びている。それらの藻体はセルロース質の鞘で覆われており、かなり長く伸びても急流のも耐え得る。また、藍藻の繁みは珪藻が付着する場を与えることにもなり、藍藻の増殖は石表面の単位面積当たりの生産量を効率的に増加されることになる。アユの喰み跡が多いほど *Homoeothrix* sp. が優先する割合が高くなったとする観察もあり¹⁵⁻¹⁶⁾、アユ漁場においては、藍藻は珪藻とともに重要な付着藻類ではないかと考えている。

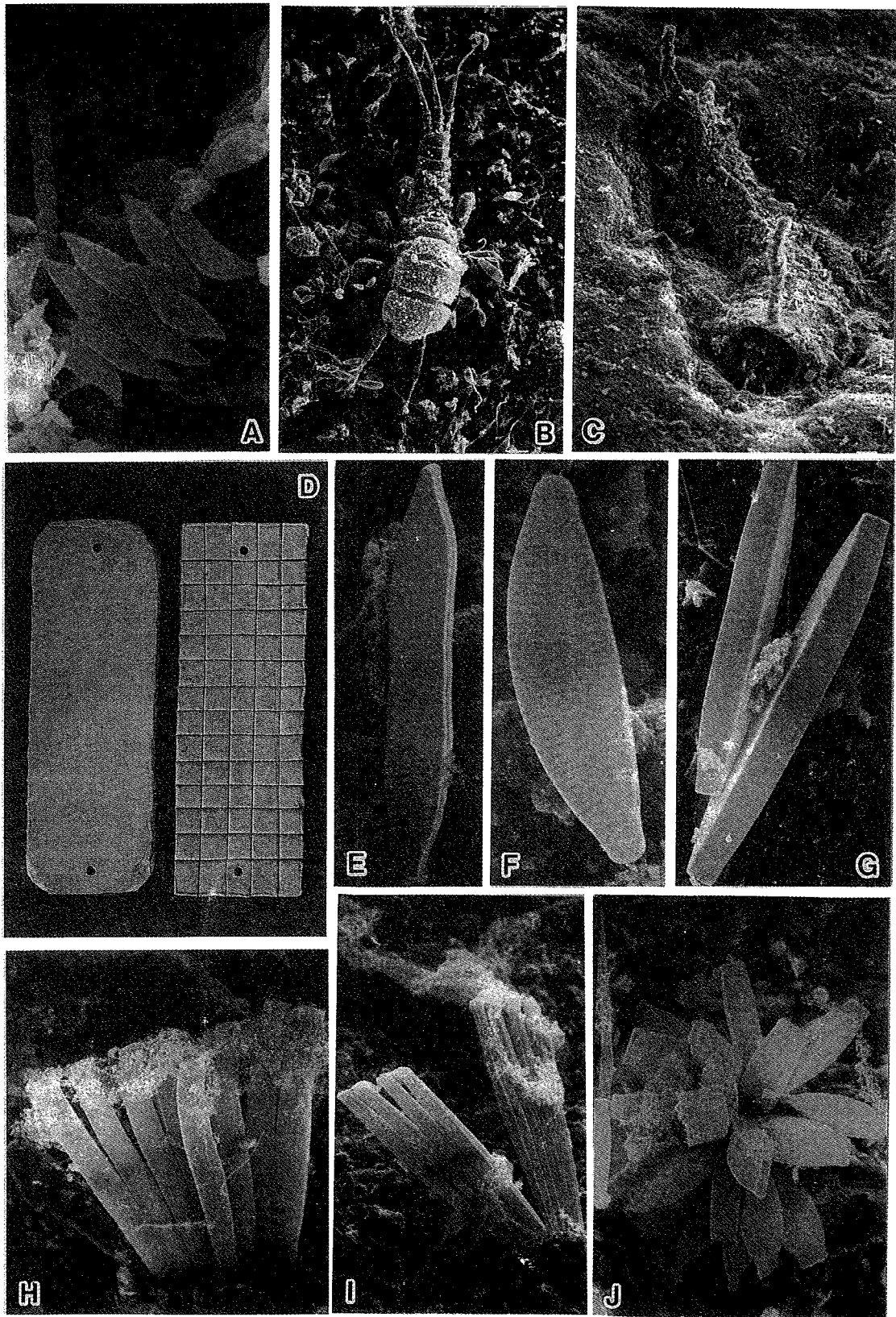
本研究中に付着板や珪藻類の表面などに粒状、棒状、糸状の細菌が観察された(図版ⅡI)。細菌は沈設直後にはほとんど観察されず、3日目以降に観察された。しかしその量は少なく、アユの餌料としては無視してもよいように思われた。

文 献

- 1) 宮地伝三郎：アユの話。岩波書店，東京，1960，pp. 226.
- 2) 石田力三：魚類適正放流量（魚をほどよく放流するための手引き—魚類適正放流量定量化調査報告書）。全国内水面漁業協同組合連合会，1992，pp. 9—24.
- 3) 田中光・増沢一・伊藤時夫・牟田邦甫・古田能久・東井純一：水域生態系における物質とエネルギーの流れ（クリーンエナジー計画成果シリーズ（生物環境制御））。No. 1，農林水産技術会議事務局，1984，pp. 165—180.
- 4) 村上恭祥・林譲二・加藤友久：広島県（アユ漁業にとって望ましい河川流量調査）（魚をはぐくむ豊かな流れ—河川生物資源保全流量調査報告書）。全国内水面漁業協同組合連合会，1989，pp. 158—209.
- 5) 西村和紀・安東生雄：付着藻類の増殖量測定法とアユの摂餌状況。日水誌，57(3)，391—396(1991).
- 6) 高山晴義：走査電子顕微鏡による *Chattonella* sp. (*Hormellia* sp.) の観察。日プ学報，27(1)，37—40(1980).
- 7) 高山晴義：走査電子顕微鏡による *Gymnodinium* 2種の観察。日プ学報，28(2)，121—129(1983).
- 8) Takayama, H.: Apical groove of unarmored dinoflagellates. Bull. Japan Plankton Soc., 32(2)，129—140(1990).
- 9) 高山晴義：走査電子顕微鏡による観察法（赤潮生物研究指針）。日本水産資源保護協会，東京，1987，pp. 73—81.
- 10) 全国湖沼河川養殖研究会アユ放流部会：付着藻類測定用人工基物について（アユの放流研究—アユ放流研究部会昭和60～62年度のとりまとめ）。全国湖沼河川養殖研究会アユ放流部会，p. 7，1989.
- 11) 群馬県水産試験場：アユ適正放流基準（尾数）の検討（アユの放流研究—アユ放流研究部会昭和57～59年度のとりまとめ）。全国湖沼河川養殖研究会アユ放流部会，1986，pp. 136—150.
- 12) 岐阜県水産試験場：アユの放流技術に関する研究（アユの放流研究—アユ放流研究部会昭和57～59年

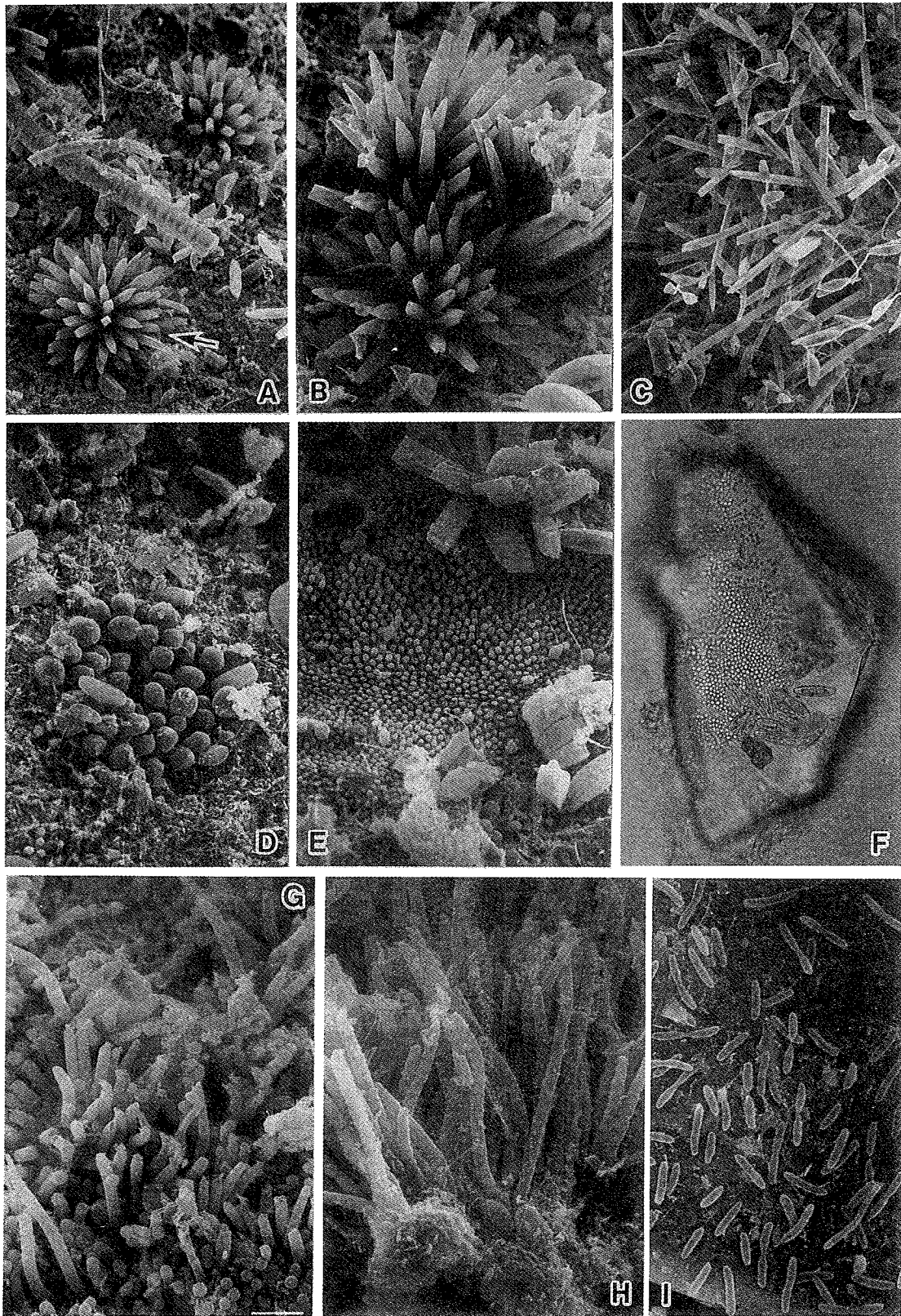
- 度のまとめ). 全国湖沼河川養殖研究会アユ放流部
会, 1986, pp. 166-175.
- 13) 高知県内水面漁業センター：主要河川における流下
仔アユ量と餌料生物量調査 (アユの放流研究-ア
ユ放流研究会昭和60~62年度のとりまとめ). 全
国湖沼河川養殖研究会アユ放流部会, 1989, pp.
163-169.
- 14) 和歌山県内水面漁業センター：真国川における海産
アユの適正放流密度(アユの放流研究-アユ放流研
究部会昭和57~59年度のとりまとめ). 全国湖沼河
川養殖研究会アユ放流部会, 1986, pp. 199-209.
- 15) 石川県内水面水産試験場：人工生産アユの放流効果
試験 (アユの放流研究-アユ放流研究会昭和60
~62年度のとりまとめ). 全国湖沼河川養殖研究会
アユ放流部会, 1989, pp. 119-126.
- 16) 岡山県水産試験場：吉井川中流域の付着藻類とアユ
の成長について (アユの放流研究-アユ放流研
究部会昭和60~62年度のとりまとめ). 全国湖沼河川
養殖研究会アユ放流部会, 1989, pp. 152-157.

図版 I



A : *Scenedesmus* sp.の群体 B, C : 水生昆虫とその巣 D : 素焼き粘土製の藻類付着板
E - G : 付着板沈設1日後に観察された珪藻(E, G: *Synedra* sp. F : *Cymbella* sp.)
H - I : 3日間沈設した付着板の表面に観察された *Synedra* sp. の8細胞群体
J : 5日間沈設した付着板の表面に観察された *Cymbella* sp. の群体

図版 II



A, B : 7日間沈設計した付着板の表面 C : 9日間沈設計した付着板の表面
D, E : 付着板上の *Homoeothrix* sp. の原基細胞
F : 石屑片に付着した *Homoeothrix* sp. の原基細胞(光学顕微鏡写真)
G, H : 伸張を始めた *Homoeothrix* sp. の原基細胞 I : 付着板上の細菌群